

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

DER EINFLUSS VON PHARMAKA AUF DIE VERTEILUNG
VON CHLORPROMAZIN IN EINEM KÜNSTLICHEN BLUT

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Klaus Hermann Tschentscher

aus

Schwerin/Mecklenburg

Mainz 1973

1974

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

DER EINFLUSS VON PHARMAKA AUF DIE VERTEILUNG
VON CHLORPROMAZIN IN EINEM KÜNSTLICHEN BLUT

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Klaus Hermann Tschentscher

aus

Schwerin/Mecklenburg

Mainz 1973

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

DER EINFLUSS VON PHARMAKA AUF DIE VERTEILUNG
VON CHLORPROMAZIN IN EINEM KÜNSTLICHEN BLUT

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Klaus Hermann Tschentscher

aus

Schwerin/Mecklenburg

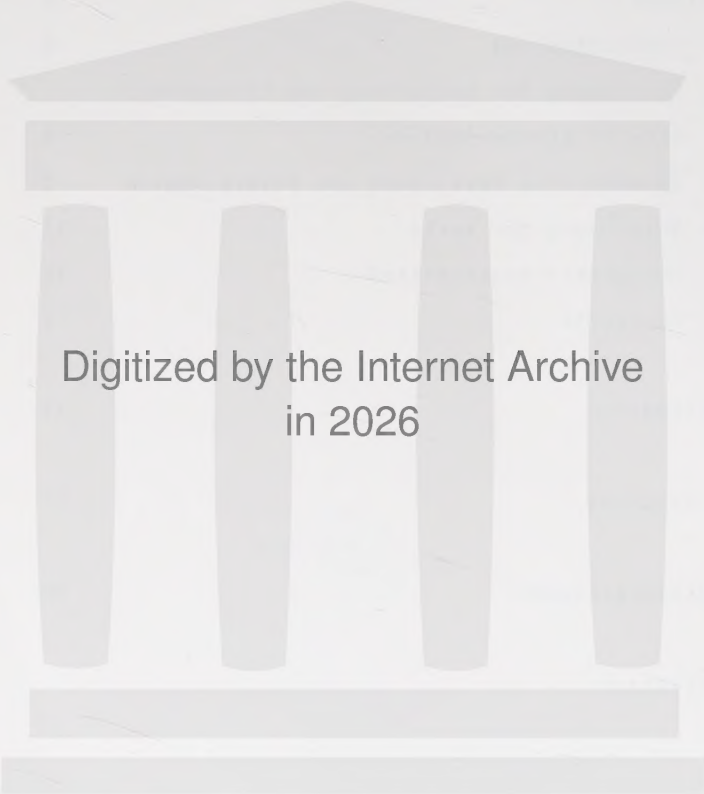
Mainz 1973



Fachbereichsdekan: Professor Dr. U. Wollert
Referent : Professor Dr.Dr. J. Krieglstein
Korreferent : Professor Dr. U. Wollert
Tag der mündlichen Prüfung : 15.Mai 1974

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
METHODE	6
1. Standardmedium	6
2. Bestimmung der Verteilung von Chlorpromazin im Standardmedium	8
3. Quantitative Bestimmung von Chlorpromazin	9
4. Berechnung der Werte	11
5. Verwendete Arzneimittel	15
6. Statistik	16
ERGEBNISSE	17
DISKUSSION	23
ZUSAMMENFASSUNG	29
LITERATUR	31



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG

Die Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln stellt einen der Faktoren dar, welche die Verteilung eines Pharmakons im Körper bestimmen. Die große Oberfläche der Plasmaproteine ermöglicht eine verstärkte Anlagerung von niedermolekularen Substanzen. Die einzelnen Plasmaproteine zeigen bezüglich ihrer Bindungseigenschaften Unterschiede. So sind physiologische Substanzen, wie Hormone und Vitamine, an Trägermoleküle aus der α - und β -Globulinfraktion gebunden, wogegen Arzneimittel, als körperfremde Stoffe, vorwiegend an Albumin gebunden sind. Deshalb besteht bei der Beschreibung der Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln die Bindung an Albumin im Vordergrund.

Die Reaktion der Arzneimittel mit dem Eiweiß ist reversibel und folgt dem Massenwirkungsgesetz. Wenn aus diesem chemischen Gleichgewicht die freie Substanz abgezogen wird, zerfällt der Arzneimittel - Protein - Komplex solange, bis die Gleichgewichtslage wieder hergestellt ist. Die Zeit, die für diese Gleichgewichtseinstellung benötigt wird, liegt in der Größenordnung von 10^{-6} sec. Dies bedeutet für die biologische Fragestellung, daß von einer momentanen Gleichgewichtseinstellung ausgegangen werden kann.

Aus diesen physikochemischen Eigenschaften lassen sich

für die Praxis wichtige Depot- und Pufferfunktionen der Plasmaproteinbindung herleiten. Die Depotfunktion findet ihren Ausdruck darin, daß der Arzneimittelprotein-komplex in dem Maße dissoziiert, wie die freie Substanz aus dem Gleichgewicht abgezogen wird und in das Gewebe diffundiert. Hierbei wirkt das Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem Arzneimittel gleichzeitig als Puffersystem, denn durch den Nachschub des Pharmakons aus dem Depot der Plasmaproteinbindung kann über längere Zeit eine konstante Konzentration an freier Substanz aufrecht erhalten werden. Von besonderer pharmakokinetischer Bedeutung ist, daß nur der freie Anteil eines Arzneimittels in der Lage ist die Blutbahn zu verlassen und mit Rezeptoren entsprechende Verbindungen einzugehen. Somit können Wirkungseintritt, Wirkungsstärke und Wirkungsdauer ebenso wie die Verteilung im Organismus, Stoffwechsel und Ausscheidung eines Pharmakons von dessen Plasmabindung beeinflußt werden.

In welchem Ausmaß ein Pharmakon an Eiweiß gebunden wird und inwieweit es in seiner Bindung beeinflußt werden kann, hängt neben der Temperatur, Albuminkonzentration und dem pH-Wert von der Qualität der Eiweißkörper und von der chemischen Beschaffenheit des Pharmakons selbst ab. Chemisch verwandte Arzneimittel sind in der Lage, um die Bindungsplätze am Albuminmolekül zu konkurrieren und einander zu verdrängen. Hierbei ist die

Natur der Eiweißbindung und insbesondere die Frage nach den verschiedenen Bindungsmechanismen von Wichtigkeit. Kovalente Bindungen von Arzneimitteln an Albumin kommen im allgemeinen nicht vor. Dagegen sind Wasserstoffbrückenbindungen und Ionenbindungen durchaus möglich, scheinen aber keine ausschlaggebende Rolle zu spielen. Neuere Untersuchungen zur Theorie der Eiweißbindung von Pharmaka rücken den hydrophoben Charakter dieser Bindung immer mehr in den Vordergrund. Unter hydrophober Bindung oder besser hydrophober Wechselbeziehung versteht man nach NÉMETHY und SCHERAGA die Tendenz unpolarer Gruppen, sich in wässriger Lösung zu assoziieren, um auf diese Weise der Berührung mit benachbarten Wassermolekülen zu entgehen. Dies ist wahrscheinlich der wichtigste Mechanismus bei der Eiweißbindung von Pharmaka. Aromatische Ringe als hydrophobe Atomgruppe spielen dabei eine große Rolle.

Bei der Untersuchung der Albuminbindung eines Sulfonamidmoleküls mit Hilfe der kernmagnetischen Resonanzspektrographie konnte von JARDETZKY (1964) gezeigt werden, daß der Benzolring des Sulfonamids hydrophob an einen Benzolring des Albuminmoleküls gebunden ist. Hieraus ergeben sich wichtige praktische Gesichtspunkte zur Verdrängung von Pharmaka aus ihrer Eiweißbindung. Das Konkurrieren der Pharmaka um Bindungsstellen an den Plasmaproteinen erfolgt weniger zwischen

Ionen gleicher Ladung sondern zwischen gleichartigen hydrophoben Strukturen, die sich gegenseitig verdrängen können.

SCHANKER et al. (1961) konnten in ihren Versuchen über das Eindringen von Pharmaka in Erythrozyten nachweisen, daß neben der Ionisation in erster Linie der Grad der Lipophilie des Pharmakons zu den die Permeation durch die Erythrozytenmembran bestimmenden Faktoren gehört. Die Aufnahme der Pharmaka in die Erythrozyten nahm unabhängig von ihrer Konzentration zu.

Neben diesen nur an Erythrozyten durchgeführten Untersuchungen konnten JÄHNCHEN und KRIEGLSTEIN (1971) zeigen, daß auch in Gegenwart einer hohen Albuminkonzentration (6g %) die Erythrozyten befähigt sind, mehr als die Hälfte der Gesamtkonzentration eines lipophilen Arzneimittels zu binden. Im Bereich von niedrigen Albuminkonzentrationen (2 g%) übertraf die Bindung lipophiler Arzneimittel an die Erythrozyten die an Albumin um das Dreifache (JÄHNCHEN et al., 1971). Versuche mit der isoliert perfundierten Rattenleber ergaben, daß der von Erythrozyten gebundene Anteil eines hydrophoben Pharmakons im Perfusionsmedium sehr rasch mobilisierbar ist, was mit einer reversiblen Bindung an die Erythrozytenoberfläche am ehesten erklärbar schien (JÄHNCHEN et al., 1971). Diese Vorstel-

lung wird gestützt durch Befunde von KWANT und SEEMAN (1969), die ein hydrophobes Bindungsareal der Erythrozytenmembran für Chlorpromazin beschrieben und thermodynamisch charakterisiert haben.

Für die Charakterisierung des Bindungsvermögens von Arzneimitteln im Blut ist deshalb die zelluläre Komponente gleichfalls von Bedeutung und sollte bei Bindungsversuchen immer berücksichtigt werden. Dadurch wird es möglich in vitro beobachtete Effekte ohne größere Abstriche auf Verhältnisse in vivo zu übertragen (McARTHUR et al., 1971).

Der wirksame, freie Anteil eines lipophilen Pharmakons in einem Medium, beziehungsweise in der Blutbahn, kann somit durch Verschiebungen zwischen diesen Bindungskompartimenten verändert werden. Wie JÄHNCHEN et al. (1971) an der isoliert perfundierten Rattenleber beobachten konnten, änderte sich nach Zugabe von Suramin zu einem promazinhaltigen Medium der nicht gebundene Anteil von Promazin nur wenig, doch vergrößerte sich der an Albumin gebundene Anteil des Promazin signifikant, während der an Erythrozyten gebundene Anteil entsprechend abnahm.

Es erschien daher von Interesse in den vorliegenden Untersuchungen zu prüfen, inwieweit sich die Verteilung

des stark lipophilen Chlorpromazin auf Erythrozyten, Albumin und wäßrige Phase eines Mediums unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka ändert und ob an den hydrophoben Bindungsarealen der Erythrozytenoberfläche ebenso Kompetitionsphänomene stattfinden können wie bei der Bindung der Pharmaka an Albumin.

METHODE

1. Standardmedium

Die Verteilung von Chlorpromazin wurde in einem Medium, bestehend aus Rinderserumalbumin, gewaschenen Rindererythrozyten und einer 0,02 M Phosphatpufferlösung nach SÖRENSEN pH 7,4 mit 0,9 % NaCl (im folgenden als Pufferlösung bezeichnet) bestimmt. Die Osmolarität der Pufferlösung betrug 315 mOsmol (Knauer Halbmikrometer, Berlin).

Das Medium enthielt Chlorpromazin in einer Konzentration von 10^{-4} M und gegebenenfalls ein weiteres Pharmakon, dessen Einfluß auf die Verteilung von Chlorpromazin untersucht werden sollte, in einer Konzentration von 10^{-3} M. Beide Pharmaka wurden zunächst in 35 ml Pufferlösung gelöst, wobei je nach

Lösungseigenschaft 0,2 N NaOH, beziehungsweise 0,2 N HCl hinzugegeben wurde. In derselben Pufferlösung wurden zusätzlich 4 g Rinderserumalbumin (Qualität: trocken, "reinst"; Behringwerke, Marburg) gelöst. Um für das fertige Standardmedium einen pH-Wert von 7,4 zu erhalten, war es auf Grund von Voruntersuchungen nötig, die so erhaltene Pufferalbuminlösung auf einen pH-Wert von 7,55 einzustellen (Präzisions-pH-Meter der Fa. Knick, Berlin).

Die für das Medium verwendeten Erythrozyten entstammten einem Citrat-Rinderblut (nicht älter als 48 h), bei welchem nach 10 min Zentrifugation (Kühlzentrifuge Junior KS I der Fa. Heraeus Christ, Osterode; 3000 x g) das Plasma und die über den sedimentierten Erythrozyten liegenden Leukozyten mit einer Wasserstrahlpumpe abgezogen worden waren. Die so von Plasma und Leukozyten abgetrennten Erythrozyten wurden mit Pufferlösung suspendiert und erneut 10 min zentrifugiert. Nach dreimaliger Zentrifugation mit Pufferlösung wurden 40 ml der abzentrifugierten Erythrozyten zu den etwa 35 ml der pharmakahaltigen Pufferalbuminlösung hinzugegeben und mit Pufferlösung auf 100 ml aufgefüllt. Das so erhaltene Medium wies bei der pH-Kontrolle einen Wert auf, der zwischen 7,36 und 7,44 schwankte und mit 0,2 N NaOH oder 0,2 N HCl auf pH 7,4 eingestellt wurde.

Der Hämatokrit des Mediums betrug $31,5 \pm 0,25 \%$ ($n = 93$) und wurde mit einer Mikrohämatokritzentrifuge (Heraeus Christ, Osterode) bestimmt. Das Medium mit den gelösten Pharmaka wurde für drei Stunden bei einer Temperatur von 22°C auf einer Schüttelmaschine inkubiert. Unmittelbar danach wurden dem Medium fünf Proben zu 2 ml zur quantitativen Bestimmung von Chlorpromazin (Gesamtkonzentration) entnommen.

2. Bestimmung der Verteilung von Chlorpromazin im Standardmedium

Nach Zentrifugation des Mediums wurde die sich über den absedimentierten Erythrozyten befindliche Pufferalbuminlösung für die Ultrazentrifugation abgezogen. Diese pharmakahaltige, erythrozytenfreie Albuminlösung wurde im Festwinkelrotor (Typ 65 der präparativen Ultrazentrifuge, Modell Spinco L 2 65 B der Fa. Beckman) bei 50 000 U/min ($= 150\,000 \times g$) und 22°C zentrifugiert. Die Laufzeit betrug 15 Stunden. Nach der Ultrazentrifugation wurden die Röhrchen in flüssiger Luft eingefroren und von oben her in fünf 1,2 cm dicke Scheiben (1,7 ml) zersägt (SCHOLTAN et al., 1966).

Chlorpromazin wurde bestimmt

- a) im Medium (Gesamtkonzentration)
- b) in der erythrozytenfreien Albuminlösung und
- c) im wäßrigen Überstand des Ultrazentrifugates.

Ölsäure, Chlorimipramin, Suramin, Desoxycholsäure, Diphenylhydantoin, Thiopental, Azetazolamid und Chlorothiazid wurden hinsichtlich ihres Effektes auf das Bindungsvermögen von Chlorpromazin in einer erythrozytenfreien Albuminlösung (5,7 g%) untersucht. Für Desoxycholsäure, Ölsäure, Suramin und Chlorimipramin wurde die gleiche Untersuchung in einer albuminfreien Erythrozytensuspension (Hämatokrit 31 %) durchgeführt. Um den Einfluß von freiem Hämoglobin auf die Verteilung von Chlorpromazin im Medium und in einer Erythrozytensuspension zu untersuchen, wurde Chlorpromazin in Gegenwart von hohen Hämoglobinkonzentrationen bestimmt. Hierzu wurde ein Teil des Standardmediums beziehungsweise der Erythrozytensuspension abgezweigt und eingefroren und nach dem Auftauen dem Standardmedium oder der Erythrozytensuspension wieder zugeführt. Hämoglobin wurde als Hämoglobíncyanid (Cyanhämoglobinreagens nach DRABKIN der Fa. Asid, München) bestimmt.

3. Quantitative Bestimmung von Chlorpromazin

Chlorpromazin wurde nach Extraktion mit Isopentanolhaltigem n-Heptan photometrisch bestimmt (KRIEGLSTEIN und KUSCHINSKY, 1968). Bei der Bestimmung der Konzentration von Chlorpromazin im Standardmedium und der nach Zentrifugation (Kühlzentrifuge der Fa. Heraeus Christ, Osterode; 5 000 U/min und 4° C) des Mediums erhaltenen erythrozytenfreien Albuminlösung wurden 5 mal 2 ml der zu untersuchenden Lösungen mit 5 ml 0,2 N Natronlauge alkalisch gemacht und mit 10 ml n-Heptan, das zusätzlich 1,5 % Isoamylalkohol enthielt, 30 min geschüttelt. Hierdurch wurde das schwach basische Chlorpromazin in die organische Phase (n-Heptan) übergeführt.

Nach dem Zentrifugieren bei 0° C wurden 5 ml der organischen Phase mit 2 ml 50 %iger Schwefelsäure, die 10 mg% Eisen-III-chlorid enthielt (FELS et al., 1959; RIEDER, 1960), durch 5 min Schütteln extrahiert. In dem durch die Schwefelsäure bedingten sauren Milieu geht Chlorpromazin unter Salzbildung in die wäßrige Phase über und bildet mit Eisen-III-chlorid einen roten Farbstoff. Die organische Phase wurde abgesaugt und der aus Chlorpromazin entstandene rote Farbstoff im Photometer der Fa. Eppendorf mit dem Filter Hg 546 nm gemessen. Als Leerwert diente ein Versuchsansatz, der an Stelle der chlorpromazinhaltigen Lösung Standardpuffer enthielt.

Wegen der niedrigen Chlorpromazinkonzentration im Ultrazentrifugat mußte die Nachweisempfindlichkeit durch Änderung der Extraktionsvolumina heraufgesetzt werden. Von den durch Zersägen der Ultrazentrifugenröhrchen erhaltenen fünf Scheiben wurde je 1 ml zur quantitativen Bestimmung von Chlorpromazin entnommen. 8 ml der organischen Phase wurden mit nur 1 ml der eisen-III-haltigen Schwefelsäure extrahiert. Um nach der Ultrazentrifugation auf den an Albumin gebundenen Chlorpromazinanteil schließen zu können, wurden vor der Ultrazentrifugation pro Medium zwei Proben der zu ultrazentrifugierenden Albuminlösung in gleicher Weise aufgearbeitet.

Bei der Untersuchung, inwieweit Pharmaka das Bindungsvermögen von Chlorpromazin in einer reinen Albuminlösung (5,7 g%) beeinflussen, wurde die Albuminlösung ebenfalls ultrazentrifugiert und wie oben beschrieben aufgearbeitet.

4. Berechnung der Werte

Die Verteilung von Chlorpromazin unter dem Einfluß eines Pharmakons wurde in jeweils zwei Standardmedien untersucht, wobei diese zwei Standardmedien mit zehn Medien verglichen wurden, die außer Chlorpromazin kein weiteres Pharmakon enthielten. Der Chlor-

promazingehalt wurde im nichtzentrifugierten Medium gemessen (= Gesamtkonzentration), in der durch Zentrifugation des Mediums erhaltenen erythrozytenfreien Albuminlösung (= Konzentration des an Albumin gebundenen und des nichtgebundenen Chlorpromazin) und in der nach Ultrazentrifugation erhaltenen wäßrigen Phase (= Anteil des nichtgebundenen Chlorpromazin).

Die fünf aus dem Medium entnommenen Proben ergaben fünf Extinktionswerte. Diese wurden gemittelt und um den Leerwert vermindert. In gleicher Weise wurde mit den fünf der Albuminlösung entnommenen Proben verfahren. Bei einem für das Medium gefundenen Hämatokrit von 31 % (z.B.) wurde bei der Berechnung des prozentualen Chlorpromazingehaltes an Erythrozyten der für die Albuminlösung gemittelte Extinktionswert mit 0,69 multipliziert, da die Albuminlösung nur 69 % des Mediums darstellt. Bei der Hämatokritbestimmung mit der Mikrohämatokritzentrifuge (23 000 xg) kann der Fehler durch das "trapped plasma" vernachlässigt werden (DOST, 1968). Der so erhaltene Wert wurde in Relation zu dem für das Medium gemittelten Extinktionswert gesetzt, wobei der Extinktionswert für das Medium als 100 % und der für die Albuminlösung als x % angenommen wurde. Die Differenz zwischen den 100 % des Mediums

und den für die Albuminlösung gefundenen Wert ergab den Chlorpromazingehalt in % für die Erythrozyten.

Der Anteil des freien nichtgebundenen Chlorpromazin wurde aus dem eiweißfreien Überstand des Ultrazentrifugates bestimmt. Die Brauchbarkeit der Ultrazentrifugation für die Bestimmung der Plasma-proteinbindung von Arzneimittel ist von verschiedenen Autoren experimentell erbracht worden (BÜTNER und PORTWICH, 1961; SCHOLTAN, 1965).

Für die Chlorpromazinkonzentration ergibt sich nach der Ultrazentrifugation eine Kurve (siehe Abb. 1), die am Anfang ein Plateau und daran anschließend einen steil ansteigenden Ast zeigt. Dabei stellt die Plateauzone die eiweißfreie Schicht dar, in der sich die Konzentration des freien, nichtgebundenen Chlorpromazin befindet. Beim Aufarbeiten der in fünf Scheiben zersägten Ultrazentrifugenröhrchen ergaben sich für die Plateauzone meistens vier Werte. Der fünfte Wert, der der eiweißhaltigen Schicht des Ultrazentrifugates entstammte, wurde für die Berechnung des freien ungebundenen Chlorpromazin nicht verwendet. Von der Albuminlösung eines Mediums wurden zwei Proben ultrazentrifugiert und anschließend, wie oben beschrieben, zusammen mit zwei Proben der-

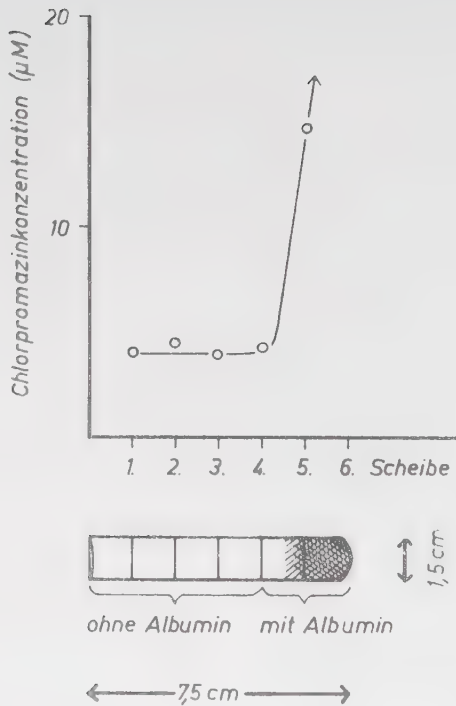


Abb. 1:

Verlauf der Chlorpromazinkonzentration (Ordinate) in einem Ultrazentrifugenröhrchen nach 15 h Laufzeit bei 50 000 Upm im Festwinkelrotor Typ 65 bei 22°C. Ausgangslösung: Pufferalbuminlösung (5,7 g%) und 28 μM Chlorpromazin (Chlorpromazinkonzentration der Albuminlösung nach Abtrennen der Erythrozyten im Standardmedium). Auf der Abszisse sind die Scheiben des zersägten Ultrazentrifugenröhrchens angegeben, Volumen einer Scheibe : 1,7 cm³.

selben nichtultrazentrifugierten Albuminlösung aufgearbeitet. Der gemittelte und um den Leerwert verminderte Extinktionswert der nichtultrazentrifugierten Albuminlösung entsprach dem bereits vorher bei der Bestimmung des Chlorpromazingehaltes für Erythrozyten gefundenen %-Wert für die Albuminlösung. Dieser Wert wurde mit den beiden gemittelten und um den Leerwert verminderten Extinktionswerten, die sich aus dem eiweißfreien Überstand des Ultrazentrifugates ergaben, jeweils in Relation gesetzt. Aus den beiden daraus resultierenden %-Werten wurde der Mittelwert gebildet und damit der %-Wert des freien nichtgebundenen Chlorpromazin erhalten.

Aus der Differenz zwischen dem %-Wert des Chlorpromazin in der Albuminlösung und dem %-Wert des freien nichtgebundenen Chlorpromazin ergab sich der an Albumin gebundene Anteil für Chlorpromazin.

5. Verwendete Arzneimittel

Acetazolamid (Lederle Arzneimittel, München)
Amitriptylin (Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden)
Clorimipramin (Ciba-Geigy, Basel)
Chlorothiazid (Sharp & Dohme, München)
Chlorpromazin (Bayer, Leverkusen)
Chlortetracyclin (Lederle Arzneimittel, München)
Chininum bisulfuricum (Merck, Darmstadt)

Desoxycholsäure (Merck, Darmstadt)
Diphenylhydantoin (Nordmark-Werke, Hamburg)
Imipramin (Ciba-Geigy, Basel)
Indomethacin (Sharp & Dohme, München)
Iloglycamsäure (Schering AG, Berlin)
Ölsäure (Merck, Darmstadt)
Oxytetracyclin (Pfizer, Karlsruhe)
Phenindamin (Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden)
Phenprocoumarol (Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden)
Phenylbutazon (Ciba-Geigy, Basel)
Probenecid (Sharp & Dohme, München)
Salicylsäure (Merck, Darmstadt)
Stearinsäure (Merck, Darmstadt)
Sulfamethoxypyridazin (Lederle Arzneimittel, München)
Sulfafurazol (Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden)
Suramin (Bayer, Leverkusen)
Tetracyclin (Lederle Arzneimittel, München)
Thiopental (Promonta, Hamburg)

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit einem von OSTLE (1969) angegebenen varianzanalytischen Testverfahren, bei dem die Kontrollgruppe (Chlorpromazinbindung) jeweils gegen eine Testgruppe (Chlorpromazinbindung unter dem Einfluß von Arzneimitteln) verglichen wird. Die F-Werte und

ihre Signifikanz auf dem 1 % und 5 % Niveau der Irrtumswahrscheinlichkeit (siehe Tab. 1) wurden aus den jeweiligen Vergleichen errechnet wie folgt:

$$C = \left(\frac{T_1^2}{n_1} + \frac{T_2^2}{n_2} \right) - \frac{(T_1 + T_2)^2}{n_1 + n_2}$$

$$T_i = \sum_{j=1}^{n_i} x_j \quad (\text{Kontrolle } i = 1, \text{ Testgruppe } i = 2)$$

$$F = \frac{C}{MS_{in}} \quad MS_{in} = \text{Mittleres Abweichungs-} \\ \text{Quadrat "innerhalb der Gruppen"}$$

Die Streuung der Werte wurde durch die Standardabweichung charakterisiert ($\bar{x} \pm s$).

ERGEBNISSE

In 10 Versuchen wurde die Verteilung von 100 μ M Chlorpromazin im Standardmedium (Hämatokrit $31,5 \pm 0,3$, Albumin 4 g%) ohne den Einfluß anderer Pharmaka bestimmt. Dabei zeigte sich, daß $68,07 \pm 0,85$ % an Erythrozyten und $28,45 \pm 0,94$ % an Albumin gebunden sind. Der freie, nichtgebundene Anteil an Chlorpromazin betrug $3,47 \pm 0,24$ %.

Effekte verschiedener Pharmaka auf die Verteilung von Chlorpromazin im Standardmedium sind in Tab. 1 zusammengestellt. Der Vergleich der Chlorpromazinverteilungen, welche unter Einfluß eines weiteren Pharmakons bestimmt wurden, erfolgte varianzanalytisch. Die errechneten F-Werte überschreiten die entsprechenden Tabellenwerte für eine vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($F\text{-Wert}_{\text{Tabelle}} = 4,14$) und 1 % ($F\text{-Wert}_{\text{Tabelle}} = 7,47$) zum Teil erheblich. Die meisten Substanzen, welche die Verteilung von Chlorpromazin im Standardmedium verändern, führen zu einer Abnahme der Erythrozytenbindung und zu einer Zunahme der Albuminbindung. Dem gegenüber führte loglycamsäure zu einer deutlichen Zunahme der Erythrozytenbindung und einer Abnahme der Albuminbindung. Der Anteil an freiem, nichtgebundenen Chlorpromazin erhöhte sich am stärksten bei Chlorimipramin und Stearinsäure, welche nur unvollständig in Lösung ging. Eine deutliche Erniedrigung konnte nur bei Chininsulfat gemessen werden. Insgesamt zeigen sich beim nichtgebundenen Anteil von Chlorpromazin keine so starken Veränderungen wie bei den gebundenen Anteilen (siehe Tab. 1).

Enthielt die erythrozytenfreie Albuminlösung des Standardmediums 2 g% Hämoglobin, so zeigt sich die Verteilung von Chlorpromazin nicht verändert: 68 % waren an Erythrozyten, 28,77 % an Albumin gebunden, 3,23 % nichtgebunden (Mittelwerte aus Doppelbestimmungen).

Tabelle 1:

Einfluß verschiedener Arzneimittel auf die Verteilung von Chlorpromazin im Medium (31,5 % Erythrozyten, 4 g% Albumin). Die Gesamtkonzentration von Chlorpromazin betrug 10^{-4} M, die Gesamtkonzentration des Arzneimittels, das hinzugefügt wurde, um die Verteilung von Chlorpromazin zu beeinflussen, betrug 10^{-3} M

Arzneimittel	Chlorpromazingehalt in % der Gesamtkonzentration										Erwartete Änderungen der Konzentration des nicht gebundenen Chlorpromazins aufgrund von Literaturbefunden und den vorliegenden Ergebnissen (Tab. 2)
	Erythrozyten			Albumin				wässrige Phase			
	x	$\bar{x}$	F	x	$\bar{x}$	F	x	$\bar{x}$	F		
Imipramin	62.0 61.1	61.5 ⁺⁺	10.6	35.7 36.6	36.1 ⁺⁺	17.3	2.4 2.4	2.4 ⁺⁺	7.3	↑ Franz et al. (1969)	
Chlorimipramin	50.0 51.9	51.0 ⁺⁺	72.1	43.1 43.2	43.2 ⁺⁺	98.3	7.0 4.9	5.9 ⁺⁺	35.0	↑ Tabelle 2 ↑ Franz et al. (1969)	
Amis triptilin	56.4 55.7	56.0 ⁺⁺	35.6	39.6 40.2	39.9 ⁺⁺	35.4	4.1 4.1	4.1	2.3	↑ Franz et al. (1969)	
Thiopental	62.1 72.9	67.5	0.1	33.9 23.3	28.6	0.3	4.0 3.8	3.9	1.0	↑ Tabelle 2	
Diphenylhydantoin	60.9 61.9	61.4 ⁺⁺	11.1	35.9 34.5	35.2 ⁺⁺	13.8	3.3 3.6	3.4	0.01	↑ Tabelle 2	
Phenindamin	62.2 53.8	58.0 ⁺⁺	25.0	35.0 43.2	39.1 ⁺⁺	31.2	2.7 3.1	2.9	2.0	↑ Franz et al. (1969)	
Phenylbutazon	65.4 64.2	64.8	2.6	31.3 33.6	32.4 ⁺	5.7	3.1 2.2	2.8	3.0	- Franz et al. (1969)	
Indomethacin	59.8 55.4	57.6 ⁺⁺	27.1	37.9 42.2	40.0 ⁺⁺	36.3	2.4 2.4	2.4 ⁺	6.7	- Franz et al. (1969)	
Salicylsäure	65.6 64.4	65.0	2.4	31.9 32.9	32.4 ⁺	5.6	2.5 2.7	2.6 ⁺	4.3	↑ Jähnchen et al. (1969)	
Sulfisoxazol	72.1 67.6	69.9	0.8	25.3 29.9	27.6	0.01	2.6 2.5	2.5 ⁺	5.2	↑ Franz et al. (1969)	
Sulfamethoxy- pyridazin	69.5 69.4	69.4	0.5	27.3 27.5	27.4	0.001	3.2 3.2	3.2	0.5	↑ Franz et al (1969)	
Acetazolamid	69.1 70.0	69.5	0.5	27.0 26.5	26.7	0.1	4.0 3.6	3.8	0.5	↑ Tabelle 2	
Probenecid	60.8 63.7	62.2 ⁺⁺	8.4	36.1 32.8	34.5 ⁺⁺	11.3	3.1 3.5	3.3	0.2	- Franz et al. (1969)	
Suramin	44.0 45.4	45.0 ⁺⁺	131.4	53.2 51.3	52.3 ⁺⁺	141.2	2.8 2.8	2.8	2.8	↓ Tabelle 2 ↓ Franz et al. (1969)	
Chlorthalidylin	61.0 62.6	61.8	7.1	36.5 35.0	35.8 ⁺⁺	15.6	2.4 2.4	2.5 ⁺	6.2	↓ Franz et al. (1969)	
Tetracyclin	65.6 66.6	66.1	1.0	32.0 30.9	31.5	3.2	2.4 2.4	2.4 ⁺	6.7	↓ Franz et al. (1969)	
Oxytetracyclin	68.5 63.2	65.9	1.2	27.4 33.5	30.4	2.0	4.1 3.3	3.7	0.3	↓ Franz et al. (1969)	
Chlorothiazid	73.1 71.7	72.4 ⁺	4.6	23.8 25.3	24.6	1.9	3.1 3.0	3.1	1.1	↑ Tabelle 2	
Chininsulfat	61.4 60.2	60.8 ⁺⁺	13.0	36.8 37.4	37.1 ⁺⁺	21.4	1.8 2.4	2.1 ⁺⁺	11.4	- in Anlehnung an Chinin- hydrochlorid Franz et al. (1969)	
Phenprocoumol	70.5 73.7	72.1	3.8	26.1 22.6	24.4	2.2	3.1 3.7	3.4	0.03	↑ Franz et al (1969)	
Ölsäure	55.8 52.2	54.0 ⁺⁺	48.7	40.4 43.7	42.1 ⁺⁺	48.9	3.8 4.1	4.0	1.3	↓ Tabelle 2	
Stearinsäure	60.5 59.3	59.9 ⁺⁺	16.4	35.0 35.5	35.3 ⁺⁺	14.0	4.5 5.2	4.8 ⁺⁺	9.8	↓ in Anlehnung an Ölsäure	
Desoxycholsäure	55.0 53.3	54.1 ⁺⁺	47.9	41.2 43.4	42.3 ⁺⁺	50.5	3.9 3.5	3.7	0.2	↓ Tabelle 2	
loglycansäure	75.0 77.6	76.3 ⁺⁺	16.7	21.5 18.9	20.2 ⁺⁺	11.1	3.5 3.5	3.5	0.01	↑ Hüthwohl und Jähnchen unveröffentlichte Ver- suche	

x = Einzelwert, $\bar{x}$ = Mittelwert. F-Werte nach dem varianzanalytischen Testverfahren von OSTLE (1969) berechnet.
+ P = 5%, ++ P = 1%, ↑ = Zunahme, ↓ = Abnahme, - = keine Änderung des nicht gebundenen Arzneimittels erwartet.
Die Verteilung von Chlorpromazin im Medium ergab unter Kontrollbedingungen (ohne zusätzliche Arzneimittel):
Von Erythrozyten gebunden $68.1 \pm 0.9\%$, an Albumin gebunden $28.5 \pm 0.9\%$, nicht gebunden in wässriger Phase
 $3.5 \pm 0.2\%$ ($\bar{x} \pm s$, n = 10).

Die bei den Verteilungsversuchen unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka aufgetretenen Hämolysen lagen unter der Nachweisgrenze der Bestimmungsmethode mit Cyanhämoglobinreagens.

Untersucht man die Bindung von $100 \mu\text{M}$ Chlorpromazin in einer 5,7%igen Albuminpufferlösung (Albuminkonzentration des Standardmediums nach Abtrennen der Erythrozyten), so erhält man ein nichtgebundenes Chlorpromazin von $9,20 \pm 0,67 \%$ ($n = 4$; siehe Tabelle 2). Unter dem Einfluß von Suramin, Desoxycholsäure und Ölsäure kommt es zu einer deutlichen Abnahme des nichtgebundenen Chlorpromazin. Dagegen ist bei Chlorimipramin, Diphenylhydantoin, Thiopental, Acetazolamid und am stärksten bei Chlorothiazid eine deutliche Zunahme des freien nichtgebundenen Anteils zu messen (siehe Tab. 2).

Enthält die phosphatgepufferte NaCl-Lösung Erythrozyten (Hämatokrit 31 %) jedoch kein Albumin, so sind $3,52 \pm 0,23 \%$ ($n = 3$) Chlorpromazin nicht gebunden. Unter Chlorimipramin erhöhte sich der nichtgebundene Anteil von Chlorpromazin auf $27,55 \pm 0,29 \%$, unter Suramin auf $22,04 \pm 1,22 \%$, unter Ölsäure auf $7,42 \pm 0,53 \%$ und unter Desoxycholsäure auf $4,73 \pm 0,53 \%$. Hierzu muß erwähnt werden, daß es bei den Versuchen mit der albuminfreien Erythrozytensuspension im Falle des

Tabelle 2:

Einflußverschiedener Arzneimittel auf das Bindungsvermögen von Chlorpromazin in einer Albuminlösung. Die Albuminkonzentration (5,7 g/100 ml) entspricht der, die sich nach Zentrifugation des Mediums bei 3000 x g im Überstand befindet. Die Gesamtkonzentration von Chlorpromazin betrug 10^{-4} M, die Gesamtkonzentration des Arzneimittels, das hinzugefügt wurde, um die Verteilung von Chlorpromazin zu beeinflussen, betrug 10^{-3} M. (F-Werte nach dem varianzanalytischen Testverfahren von OSTLE (1969) berechnet.)

Arzneimittel	% nichtgebundenes Chlorpromazin $\bar{x} \pm s$	Anzahl der Experimente	F	Signifikanz
-	9.2 $\pm$ 0.7	4	-	-
Acetazolamid	11.2 $\pm$ 0.3	2	13.7	p < 0.01
Chlorimipramin	10.7 $\pm$ 0.2	3	10.5	p < 0.01
Chlorothiazid	13.3 $\pm$ 1.2	2	58.0	p < 0.01
Desoxycholsäure	5.2 $\pm$ 0.2	3	71.9	p < 0.01
Diphenylhydantoin	11.8 $\pm$ 1.3	2	23.5	p < 0.01
Ölsäure	7.9 $\pm$ 0.6	3	8.0	p < 0.05
Suramin	6.1 $\pm$ 0.5	3	44.0	p < 0.01
Triopental	12.1 $\pm$ 0.3	2	28.8	p < 0.01

Chlorimipramins und des Suramins zu erheblicher Hämolyse ($4,63 \pm 0,49$ g% Hämoglobin, $n = 3$) kam. Bei den Versuchen mit Desoxycholsäure und Ölsäure wurde ein Hämoglobin von $0,57 \pm 0,033$ g% ($n = 3$) im Überstand der Erythrozytensuspension gemessen.

In einem Kontrollversuch wurde der Einfluß hoher Hämoglobinkonzentrationen auf die Verteilung von Chlorpromazin in einer Erythrozytensuspension untersucht. Bei einer freien Hämoglobinkonzentration von 5,8 g% (Gesamthämoglobin 11 g%), die durch Einfrieren der Hälfte der Erythrozytensuspension erreicht wurde (Hämatokrit vor dem Einfrieren 31 %, nach dem Einfrieren 16 %), konnten 33,64 % Chlorpromazin im Überstand der Erythrozytensuspension gemessen werden. Ohne die hohe Hämoglobinkonzentration ergab sich für Chlorpromazin ein Wert von 3,52 % im Überstand ($n = 3$).

Die veränderte Verteilung von Chlorpromazin in der Erythrozytensuspension in Gegenwart von Chlorimipramin und Suramin kann somit ein Effekt der dabei aufgetretenen starken Hämolyse sein.

DISKUSSION

Um pharmakokinetische Schlußfolgerungen über die Bindung von Arzneimitteln zu erhalten, bestimmte man bisher üblicherweise ihre Bindung entweder im Plasma oder im Serum oder an gereinigtem Albumin. In der gegenwärtigen Untersuchung konnte jedoch gezeigt werden, daß in einem Standardmedium (Hämatokrit 31,5%; 4 g % Albumin) etwa 68 % des gesamten Chlorpromazin an Erythrozyten und weniger als 30 % an Albumin gebunden sind. Diese Befunde zeigen deutlich, daß die Bindung von Chlorpromazin an Erythrozyten nicht vernachlässigt werden darf.

Unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka zeigten sich zum Teil erhebliche Veränderungen in der Verteilung von Chlorpromazin auf Erythrozyten, Albumin und wäßriger Phase. Es erscheint bemerkenswert, daß die stärksten Effekte auf die Chlorpromazinverteilung in Verschiebungen zwischen den bindenden Kompartimenten des Chlorpromazin, Erythrozyten und Albumin, zu sehen sind. Mit Ausnahme von Chlorothiazid und loglycamsäure, die zu einer signifikanten Zunahme des erythrozytengebundenen Anteils von Chlorpromazin führten, mißt man bei den übrigen Pharmaka zum Teil erhebliche Zunahmen des albumin- gebundenen Anteils bei gleichzeitiger Abnahme des erythrozytengebundenen Anteils. Im Vergleich dazu ändert sich der freie, nicht gebundene und damit biologisch aktive

Teil von Chlorpromazin nur gering. Die Ergebnisse erscheinen zum Teil widersprüchlich, da man von der Literatur her weiß, daß unter dem Einfluß verschiedener Substanzen wie z.B. Amitriptylin (FRANZ et al., 1969) oder Salicylsäure (JÄHNCHEN et al., 1969) eine Verdrängung des Chlorpromazin aus der Albuminbindung stattfindet. In den vorliegenden Versuchen jedoch wird eine Zunahme der Bindung von Chlorpromazin an Albumin unter dem Einfluß der gleichen Substanzen beobachtet. Diese etwas verwirrenden Ergebnisse werden verständlich, wenn man die Einzelvorgänge in Betracht zieht, die die Verteilung von Chlorpromazin auf Erythrozyten, Albumin und wäßriger Phase bestimmen. Wie aus Abb. 2 ersichtlich wird, ist eine Zunahme des albumingebundenen Anteils sowohl durch eine Zunahme der Albuminbindung als auch durch eine Verdrängung aus der Bindung an die Erythrozyten möglich. Der %-Wert des verdrängten Chlorpromazin muß sich dann auf die Albuminfraktion und die Fraktion der wäßrigen Phase verteilen. Wenn Chlorpromazin von seinen Bindungsplätzen am Albumin verdrängt wird, aber der von den Erythrozyten verdrängte Anteil größer ist als der vom Albumin verdrängte, so kann im Endeffekt doch eine Erhöhung des an Albumin gebundenen Chlorpromazin resultieren. Das gemeinsame Bindeglied der möglichen dynamischen Gleichgewichte ist der freie, nichtgebundene Anteil des Chlorpromazin, der nur geringe Änderungen zeigt. Mit dem in Abb. 2 angegebenen Schema lassen

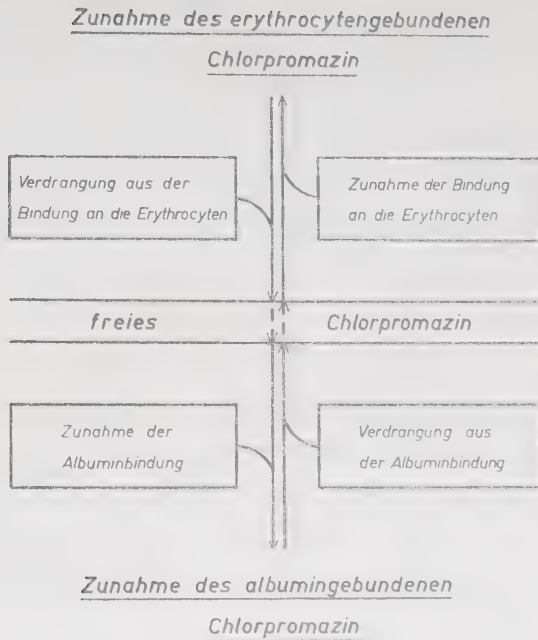


Abb. 2:

Verteilung eines Arzneimittels im Blut. Die Abbildung zeigt Faktoren, die die Verteilung eines Arzneimittels zwischen Erythrozyten, Albumin (gebundenes Arzneimittel) und wässriger Phase (freies Arzneimittel) beeinflussen können.

sich somit die unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka veränderten Verteilungen zwanglos erklären, mit Ausnahme der Effekte durch Imipramin und Salicylsäure. Von den aus der Literatur bekannten Untersuchungen (JÄHNCHEN et al., 1969; FRANZ et al., 1969) würde man für Imipramin und Salicylsäure eine Verdrängung des Chlorpromazin von seinen Bindungsplätzen am Albumin erwarten, nicht aber eine Steigerung der Bindungskapazität des Albumin für Chlorpromazin, wie es für Suramin und Tetracycline (FRANZ et al., 1969) beschrieben worden ist. Trotzdem zeigen die vorliegenden Befunde, daß unter dem Einfluß von Imipramin und Salicylsäure mehr Chlorpromazin an Albumin gebunden als von den Erythrozyten verdrängt worden ist und demzufolge sich die Konzentration des freien nichtgebundenen Chlorpromazin signifikant erniedrigt. Eine Verdrängung des Chlorpromazin aus seiner Albuminbindung kann also unter dem Einfluß dieser beiden Substanzen nicht stattgefunden haben. Das Ergebnis wird vielmehr dann verständlich, wenn man eine Steigerung der Albumin-Bindungskapazität durch diese beiden Pharmaka annimmt. Demzufolge muß die Bindungsfähigkeit des Albumins durch die Gegenwart der Erythrozyten verändert worden sein.

An den Ergebnissen, welche unter dem Einfluß der in der Arbeit verwendeten Sulfonamide und Tetracycline erzielt wurden, läßt sich die Bedeutung des lipophilen Charakters von Arzneimitteln zeigen. Die relativ hydrophilen Substan-

zen Sulfafurazol, Sulfamethoxypyridazin und Acetazolamid zeigen keine signifikanten Änderungen der Verteilung. Von den drei untersuchten Tetracyclinen zeigt das lipophilste, Chlortetracyclin, den stärksten Effekt auf die Verteilung von Chlorpromazin. Unter Tetracyclin sind die Effekte nicht mehr so ausgeprägt und das hydrophilste der untersuchten Tetracycline, Oxytetracyclin, zeigt keine signifikanten Veränderungen der Chlorpromazinverteilung.

Chlorimipramin, Suramin, Ölsäure und Desoxycholsäure, welche zu besonders starken Verschiebungen zwischen den erythrozytengebundenen und albumingebundenen Anteilen des Chlorpromazin führten, zeigten in einer erythrozytenfreien Albuminlösung, daß Chlorimipramin Chlorpromazin aus der Albuminbindung verdrängt, wogegen Suramin, Ölsäure, Desoxycholsäure das Bindungsvermögen des Albumin für Chlorpromazin verstärken (JÄHNCHEN et al., 1969; SPECTOR et al., 1969; STARINSKY und SHAFRIR, 1970).

Ergebnisse, die bei der Untersuchung mit einer albumin-freien Erythrozytensuspension erzielt wurden, sind wegen der zum Teil erheblich dabei aufgetretenen Hämolyse nicht aussagekräftig.

Die vorliegenden Befunde schränken unseres Erachtens die Signifikanz von Untersuchungen über die Eiweißbindung vor

Pharmaka ein, die nur mit Plasma, Serum oder mit Albuminpufferlösungen durchgeführt wurden, denn

1. werden zumindest lipophile Pharmaka zu einem hohen Prozentsatz an Erythrozyten gebunden,
2. kann es zu erheblichen Verschiebungen zwischen den bindenden Kompartimenten kommen, ohne daß sich die Konzentration von freiem Pharmakon, welches fähig ist, in die Zellen einzudringen und pharmakologische und toxische Reaktionen auszulösen vermag, wesentlich ändert, und
3. können sich die Bindungseigenschaften des Albumin in Anwesenheit der Erythrozyten offenbar grundsätzlich ändern, so daß Effekte, die in reinen Proteinlösungen erzielt worden sind, sich qualitativ von den in Blut erzielten unterscheiden können.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß verschiedener Pharmaka auf die Bindung von Chlorpromazin an Erythrozyten und Albumin in einem künstlichen Blut ($31,5 \pm 0,3$ % Rindererythrozyten, 4 g% Rinderserumalbumin in einer 0,02 M Phosphatpufferlösung, die zusätzlich 0,15 M NaCl enthielt) untersucht. Die Gesamtkonzentration von Chlorpromazin im künstlichen Blut betrug 10^{-4} M, die Konzentration des Arzneimittels, welches Chlorpromazin von seinen Bindungsplätzen verdrängen sollte, 10^{-3} M. Nach einer Inkubationszeit von 3 h bei 22°C wurde die Chlorpromazinkonzentration im künstlichen Blut, nach dessen Zentrifugation bei $3000 \times g$ in der überstehenden Albuminlösung und nach Ultrazentrifugation der Albuminlösung bei $150\,000 \times g$ in der wässrigen Phase bestimmt. Unter Kontrollbedingungen wurde folgende Verteilung von Chlorpromazin gefunden: Erythrozyten $68,1 \pm 0,9$ %; Albumin $28,5 \pm 0,9$ %; wässrige Phase $3,5 \pm 0,2$ %. Mit folgenden Substanzen wurde versucht, die Verteilung von Chlorpromazin im Medium zu beeinflussen: Acetazolamid, Amitriptylin, Chlorimipramin, Chlorothiazid, Chlortetracyclin, Desoxycholsäure, Diphenylhydantoin, Imipramin, Indometacin, Iloglycamsäure, Ölsäure, Oxytetracyclin, Phenindamin, Phenprocoumarol, Phenylbutazon, Probenecid, Chininum bisulfuricum, Salicylsäure, Stearinsäure, Sulfisoxazol, Sulfamethoxypyridazin, Suramin, Tetra-

cyclin und Thiopental. In den meisten Fällen kam es zwischen den an Albumin und Erythrozyten gebundenen Fraktionen von Chlorpromazin zu erheblichen Verschiebungen, ohne daß sich der freie Anteil von Chlorpromazin unter dem Einfluß der Arzneimittel wesentlich änderte. Zusätzlich wurde der Einfluß von einigen der aufgeführten Arzneimittel auf das Chlorpromazinbindungsvermögen einer Albuminlösung ohne Erythrozyten untersucht.

Die Arbeit liefert starke Hinweise dafür, daß sich nur in Gegenwart von Erythrozyten die Bindungsfähigkeit von Albumin grundsätzlich ändern kann. Es ist somit naheliegend, daß Bindungsstudien, die mit reinen Albuminlösungen, Plasma oder Serum durchgeführt werden, zu falschen pharmakokinetischen Schlußfolgerungen führen können.

Für die Überlassung des Themas und die wertvollen Hinweise bei der Abfassung dieser Arbeit bin ich Herrn Prof. Dr. Dr. J. Krieglstein zu großem Dank verpflichtet.

LITERATURVERZEICHNIS

- BRODIE, B.B.: Displacement of one drug by another from carrier or receptor sites. Proc. roy. Soc. Med. 58, 946 (1965).
- BÜTTNER, H., PORTWICH, F.: Bestimmung der Bindung von Sulfonamiden an Serumeiweiß mit der Ultrazentrifuge. Arzneimittel-Forsch. 11, 1133 (1961).
- DOST, F.H.: Grundlagen der Pharmakokinetik, 2. Aufl. Stuttgart: Thieme 1968.
- DESGREZ, P., De TRAVERSE, P.M.: Transport function of Plasma proteins. Amsterdam-London-New York: Elsevier Publ. Comp. 1966.
- FELS, J.G., KAUFMANN, M.: Free radicals from chlorpromazine. Nature (London) 183, 1392 (1959).
- FRANZ, J.W., JÄHNCHEN, E., KRIEGLSTEIN, J.: Der Einfluß verschiedener Pharmaka auf das Bindungsvermögen einer Albuminlösung für Promazin und Chlorpromazin. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 264, 462 (1969).
- GOLDSTEIN, A.: The interaction of drugs and plasma proteins. Pharmacol. Rev. 1, 120 (1949).
- JÄHNCHEN, E., KRIEGLSTEIN, J.: Die Aufnahme von Promazin, Chlorpromazin und deren Desmethylmetaboliten in das isoliert perfundierte Rattenhirn. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 268, 300 (1971).
- JÄHNCHEN, E., KRIEGLSTEIN, J., KUNKEL, F., SAMUELIS, W.J., WOLLERT, U.: Die Bedeutung der Bindung von Pharmaka an Albumin und Erythrozyten eines Perfusionsmediums der isoliert perfundierten Rattenleber. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 269, 67 (1971).

- JÄHNCHEN, E., KRIEGLSTEIN, J., KUSCHINSKY, G.: Die Bedeutung der Benzolringe bei der Eiweißbindung von Promazin und Chlorpromazin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 263, 375 (1969).
- JARDETZKY, O.: The study of specific molecular interactions by nuclear magnetic relaxation measurements. Advanc. chem. Physics 7, 499 (1964).
- KRIEGLSTEIN, J.: Zur Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln. Klin. Wschr. 47, 1125 (1969).
- KRIEGLSTEIN, J., KUSCHINSKY, G.: Quantitative Bestimmung der Eiweißbindung von Pharmaka durch Gelfiltration. Arzneimittel-Forsch. 18, 287 (1968).
- KRIEGLSTEIN, J., STOCK, R.: Comparative study of the effects of chloral hydrate and trichloroethanol on cerebral metabolism. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 277, 323 (1973).
- KWANT, W.O., SEEMAN, P.: The displacement of membrane calcium by a local anesthetic (chlorpromazine). Biochem. Biophys. Acta 193, 338 (1969).
- MEYER, M.C., GUTMAN, D.E.: The binding of drugs by plasma proteins. J. pharm. Sci. 57, 895 (1968).
- McARTHUR, J.N., Dawkins, P.D., SMITH, M.J.H.: The binding of indomethacine, salicylate and phenobarbital to human whole blood in vitro. J. Pharm. Pharmac. 23, 32 (1971).
- NÉMETHY, G., SCHERAGA, H.: Structure of water and hydrophobic binding in proteins. J. chem. physics 36, 3382 (1962).

- OSTLE, B.: Statistics in Research. 4th Ed. Iowa:
The Iowa State University Press 1969.
- RIEDER, M.D.: Einige spektrophotometrische Charakteristika von Phenothiazin- und Thioxanthenderivaten. Med. Exp. (Basel) 3, 353 (1960).
- SCHANKER, L.S., NAFPLIOTIS, P.A., JOHNSON, J.M.: Passage of organic bases into human red cells. J. Pharmac. exp. Ther. 133, 325 (1961).
- SCHOLTAN, W.: Die Bindung der Sulfonamide an Eiweißkörper. Arzneimittel-Forsch. 15, 1433 (1965).
- SCHOLTAN, W., GLOXHUBER, C.: Die Eiweißbindung von Bilirubin und Bromsulfoalein. Arzneimittel-Forsch. 16, 520 (1966).
- SCHOLTAN, W.: Die hydrophobe Bindung der Pharmaka an Humanalbumin und Ribonucleinsäure. Arzneimittel-Forsch. 18, 505 (1968).
- SPECTOR, A.A., JOHN, K., FLETCHER, J.E.: Binding of long chain fatty acids to bovine serum albumin. J. Lipid. Res. 10, 56 (1969).
- STARINSKY, R., SHAFRIR, E.: Displacement of albumin-bound bilirubin by free fatty acids. Implications for neonatal hyperbilirubinemia. Clinica Chemica Acta 29, 311 (1970).

LEBENS LAUF

Am 18.9.1945 wurde ich als Sohn des selbständigen Handelsvertreters Kurt Tschentscher und seiner Ehefrau Agnes, geborene Hackert, in Schwerin/Mecklenburg geboren.

Vom 22.4.1952 an besuchte ich fünf Jahre die Ludwig-Richter-Schule (Volksschule) in Frankfurt/Main und anschließend die Mittelschule in Illertissen/Bayern (Kolleg der Schulbrüder). Am 18.6.1962 wechselte ich über zur Realschule in Rüsselsheim (Parkschule), wo ich am 17.3. 1964 die Mittlere Reife erlangte. Ostern 1964 erfolgte dann die Aufnahme in das Immanuel Kant-Gymnasium in Rüsselsheim. Hier legte ich die Reifeprüfung am 5.11. 1966 ab.

Im Sommersemester 1967 studierte ich Biologie an der Johannes Gutenberg Universität in Mainz und wurde dort nach bestandener Umschreibeproofung im Wintersemester 1967/68 in die Medizinische Fakultät (Humanmedizin) aufgenommen. Hier legte ich am 4.10.1968 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 25.3.1970 die ärztliche Vorprüfung ab. Am 26.6.1973 schloß ich das Studium der Medizin mit dem Staatsexamen ab.

Mainz, den 6. Oktober 1973

It is a very good idea to have a copy of the
 original of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

The Board of Directors has decided to
 have a copy of the letter, and to keep it in a safe place.
 The original of the letter is in the possession of the
 Secretary of the Board of Directors.

Die Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung
des Bundesministeriums für Jugend, Familie und
Gesundheit, Bonn, durchgeführt.

